

学校编码: 10384

密级_____

学 号: 21620071151941

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

血清有机氯农药残留与肝癌关系的
病例对照研究

A Case-control Study on the Relationship between
Serum Organochlorine Levels and Liver Cancer

刘 胜

指导教师姓名: 张 军 教 授

赵本华副教授

专 业 名 称: 细 胞 生 物 学

论文提交日期: 2010 年 月

论文答辩时间: 2010 年 月

2010 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(多环芳烃、有机氯农药与厦门地区肝癌高发关系的研究)课题(组)的研究成果,获得(厦门市科技计划项目)课题(组)经费或实验室的资助,在(厦门大学医学院中心)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 刘 胜

2010年6月8日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

☐ 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

☒ 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：刘 胜

2010 年 6 月 8 日

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
缩写、符号清单、术语表.....	V
1 前言.....	1
1.1 有机氯农药的种类.....	2
1.2 有机氯农药的物理化学性质.....	3
1.3 有机氯农药的毒理性质.....	4
1.4 有机氯农药对人体的危害.....	5
2 材料和方法.....	7
2.1 研究人群.....	7
2.2 调查问卷.....	7
2.3 调查方法.....	7
2.4 资料处理.....	8
2.5 实验室检查.....	8
2.5.1 血液标本的采集与保存.....	8
2.5.2 标准品与化学试剂.....	8
2.5.3 仪器设备.....	8
2.5.4 实验用品的准备.....	9
2.5.5 气相色谱条件.....	9
2.5.6 标准曲线制备和定量.....	9
2.5.7 质量保证和质量控制(QA/QC)	10

2.5.8 血清样品检测.....	10
2.6 统计学分析.....	11
3 结果.....	13
3.1 研究人口特征.....	13
3.2 除有机氯农药以外其他危险因素与肝癌关联性结果.....	14
3.3 血清有机氯农药残留与 HCC 患病风险分析.....	14
3.3.1 有机氯暴露的危险度估计.....	15
3.3.2 有机氯暴露水平与其他危险因素的交互作用分析.....	18
4 讨论.....	24
4.1 肝癌与常见危险因素的分析.....	24
4.2 血清有机氯暴露与肝癌的关系.....	24
4.3 血清有机氯暴露与其它风险因素的交互作用对肝癌的影响.....	25
5 结论.....	27
6 参考文献.....	28
7 附录.....	35
8 致谢.....	47

TABLE OF CONTENTS

ABSTRACT (In Chinese).....	I
ABSTRACT (In English).....	III
Abbreviations, symbols list, glossary of terms.....	V
1 Introduction.....	1
1.1 The types of Organochlorine Pesticides.....	2
1.2 The physical and chemical properties of Organochlorine Pesticides.....	3
1.3 The toxicological properties of Organochlorine Pesticides.....	4
1.4 The harmful effect of Organochlorine Pesticides.....	5
2 Materials and Method.....	7
2.1 Study subjects.....	7
2.2 Study questionnaire.....	7
2.3 Study method.....	7
2.4 Data processing.....	8
2.5 Laboratory assays of organochlorines.....	8
2.5.1 Blood sample collecting and storage.....	8
2.5.2 Reagents.....	8
2.5.3 Instruments and equipments.....	8
2.5.4 Experimental materials preparation.....	9
2.5.5 Gas chromatography conditions	9
2.5.6 Standard curve and quantification.....	9
2.5.7 Quality acquire and Quality control (QA/QC)	10
2.5.8 Serum sample detection.....	10
2.6 Statistical analysis.....	11
3 Results.....	13

3.1 Characteristics of subjects.....	13
3.2 The association between HCC and other risk factors with exception to OCPs.....	14
3.3 Serum organochlorine pesticide residues and risk of HCC.....	14
3.3.1 Organochlorines exposure risk estimates.....	15
3.3.2 Transactional analysis between OCPs exposure levels and other factors.....	18
4 Discussions.....	24
4.1 Liver cancer and its common risk factors.....	24
4.2 The relationship between serum organochlorines exposure level and Liver Cancer.....	24
4.3 Interactions between serum organochlorines exposure level and other risk factors on Liver Cancer's influence.....	25
5 Conclusions.....	27
6 References.....	28
7 Appendix.....	35
8 Acknowledgements.....	47

摘要

研究目的

通过检测血清中的 DDTs、HCHs 水平,评价 DDTs、HCHs 暴露与肝癌危险的关联性、评价 DDTs、HCHs 之间以及与常见肝癌危险因素之间的交互效应,为进一步开展肝癌的病因及防治研究提供依据。

研究方法

本文使用以医院为基础的病例对照研究方法,征得当事人同意的情况下,收集了 2007.10-2009.12 在厦门大学附属中山医院、厦门市中医院和解放军 174 医院就诊住院的 345 例肝癌病患者和 961 例对照资料,并采集了相应的血液样本,运用气质联用检测技术,分析了血清样本中 α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH、p,p'-DDE、p,p'-DDT、o,p'-DDT 和 p,p'-DDD 等有机氯污染指标的含量,并比较了它们在病例组和对照组之间的差异。

研究结果

(1) 研究对象有机氯残留量检测结果。病例组样品中 p,p'-DDT、p,p'-DDE、o,p'-DDT 及 p,p'-DDD 的检出率分别为 93.5%、95.1%、23.4% 和 18.9%,对照组为 92.1%、94.2%、18.6% 和 16.7%; α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH 及 δ -HCH 病例组检出率分别为 43.5%、93.2%、26.6% 和 36.9%,对照组为 37.9%、90.5%、23.8% 和 35.7%。

(2) K-S 正态性检验成偏态分布($p < 0.001$),采用秩和检验的方法比较组间有机氯残留量的组间差异:其中,病例组 p,p'-DDE、p,p'-DDT、 α -HCH 和 β -HCH 残留量明显高于对照组($p < 0.05$);其余指标未见组间差异($p > 0.05$)。

(3) 有机氯暴露与肝癌发生危险度估计。按照对照组血清有机氯残留量的上四分位数(P75),将研究对象划分为高、低 2 个暴露水平;调整年龄、性别、BMI、职业、文化程度、经济水平和婚姻状况后,分别对有机氯污染物暴露率进行单因素 Logistic 回归分析,其中病例组 α -HCH、 β -HCH、p,p'-DDE 和 p,p'-DDT 的暴露率高于对照组,差异有统计学意义(χ^2 为 5.35~62.39, $p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。 α -HCH、 β -HCH、p,p'-DDE 和 p,p'-DDT 的 OR 值分别为 1.27、1.35、1.78 和 2.06,95%CI 均不包含 1。

结合文献报道、专业知识以及指标间的相关性分析结果,决定将年龄、性别、文化程度和糖尿病史等 4 个作为协变量,引入有机氯危险度估计模型分析。在进出模型的 $\alpha=0.10$ 水平上,以 Forward:LR 的自变量筛选方法,通过逐步回归,最终能够保留在肝癌多因素模型的只有 3 个有机氯指标,按 OR 值由大到小顺序排列分别为 β -HCH、p,p'-DDT, p,p'-DDE ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

将高检出率的有机氯农药 (p,p'-DDT, p,p'-DDE 和 β -HCH.)水平与多因素分析显著的肝癌危险因素 HBsAg、抗-HCV、饮酒、糖尿病史进行因素间的交互作用分析结果显示 p,p'-DDT 与 HBV、糖尿病史、 β -HCH 存在明显的正相加作用的交互效应 (u 值分别为 3.745、2.233 和 2.335, P 值小于 0.05 或 0.01), 其交互效应相对超额危险度 (RERI) 分别为 1.49、1.15、0.740, 交互作用归因比 (API) 分别为 28.41%、21.30%、和 26.71%; p,p'-DDE 与饮酒有着正的交互效应,但差异没有统计学意义; β -HCH 与抗 HCV 具有正相加交互作用,但差异亦没有统计学意义。

研究结论

本研究以病例—对照研究为手段,通过 345 例肝癌患者和 961 例对照的调查资料分析,得出如下结论:

- (1) 研究对象血清中 p,p'-DDT, p,p'-DDE 和 β -HCH 检出率均很高;
- (2) β -HCH、p,p'-DDT 和 p,p'-DDE 是肝癌患病的独立危险因素;
- (3) p,p'-DDT 与 HBV、p,p'-DDT 与糖尿病史、p,p'-DDT 与 β -HCH 之间对肝癌具有明显的正相加交互作用。

关键词: 病例对照研究; 人群暴露; 有机氯农药; 原发性肝癌; 交互作用

Abstract

Objectives

Analysis the correlation between DDTs、HCHs exposure and HCC, and the interactions of DDTs、HCHs and other common risk factors on liver cancer by detecting those organic compounds exposure level in human serum, to provide a basis for the prevention and control of liver cancer and further etiological studies.

Methods

Our research is a population-based case-control study. We have collected the data of the 346 patients with liver cancer and 961 controls from Xiamen Zhongshan hospital、Xiamen Central hospital and Liberation Army 174 hospital during the period of 2007.3 to 2009.12 in Xiamen city under the agreement treaty was been signed by them. The data information are including general state of health, eating habit, lifestyle, patient history and we also have the blood been collected. The contents of organochlorines such as α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH、p,p'-DDE、p,p'-DDT、o,p'-DDT and p,p'-DDD are detected and analyzed by gas chromatography-mass detector. Statistical analysis is carried out between cases and control groups by using SPASS16 software.

Results

(1) Detection rate of p,p'-DDT、p,p'-DDE、o,p'-DDT and p,p'-DDD among cases are 93.5%、95.1%、23.4% and 18.9% respectively and among controls are 92.1%、94.2%、18.6% and 16.7% respectively; Detection rate of α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH and δ -HCH among cases are 43.5%、93.2%、26.6% and 36.9% respectively, while those among controls are 37.9%、90.5%、23.8% and 35.7% respectively.

(2) By the Kolmogorov-Smirnov test of normality, the results showed significantly skewed distribution ($P < 0.001$) therefore the differences between case and control were compared by rank sum test. The serum content of p,p'-DDE、p,p'-DDT、 α -HCH and β -HCH in cases are higher than that in controls and the difference has statistics significance.

(3) Organochlorines exposure risk estimates: we divided both case and control

subjects into two groups by taking the upper quartile of control group as a reference level. After adjusting age、sex、BMI、occupation、education、economy and marriage factors, single-logistics regression shows that p,p'-DDE、p,p'-DDT、 α -HCH and β -HCH still positively relate with liver cancer (χ^2 , 5.35~62.39, $p < 0.05$ or $p < 0.01$) with OR 1.78、2.06、1.27 and 1.35 respectively.

According to literature report、expertise and correlation analysis results, we take age、sex、education、diabetes mellitus history and organochlorine exposure levels as consideration variables. Then multi-factor logistic regression applies to analysis all the variables in a-0.10 level through the stepwise regression. Ultimately, only three organochlorine indicators enter the multi-factor model of liver cancer, with the descending order of OR value, β -HCH、p,p'-DDT, p,p'-DDE.

Finally, Transactional analysis was been conducted among the former three organochlorine indicator (β -HCH、p,p'-DDT, p,p'-DDE) and multi-factor logistic regression analysis statistical significant risk factors, HbsAg、anti-HCV、alcohol drinking and diabetes mellitus history. Analysis results show that p,p'-DDT have interactions with HBV、diabetes mellitus history and β -HCH with u value 3.745、2.233 and 2.335 respectively, $P < 0.05$ or 0.01 and RERI value 1.49、1.15 and 0.740 respectively. Although p,p'-DDE interacts with alcohol drinking, β -HCH with anti-HCV, both of them show no statistics significance.

Conclusions

We concluded from the result of the population-based case-control study as followed.

1. Detection rate of p,p'-DDT, p,p'-DDE and β -HCH are very high;
2. β -HCH、p,p'-DDT, p,p'-DDE are the independent risk factors of HCC;
3. There were significant interactions between p,p'-DDT and HBV, p,p'-DDT and Diabetes mellitus, p,p'-DDT and β -HCH on liver cancer.

Keywords: Case-control study; Human exposure; Chlorinated pesticides; Liver cancer; Interaction

缩写、符号清单、术语表

Abbreviations, symbols lists, glossary of terms

缩写/符号	英文名称	中文名称
HCC	Hepatocellular carcinoma	肝细胞癌
OCPs	Organochlorine Pesticides	有机氯农药
POPs	Persistent Organic Pollutant	持久性有机污染物
HCH	Hexachlorocyclohexane	六六六
HCHs	Hexachlorocyclohexane Isomers	六六六类 同分异构体
α -HCH	α -1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane	α -六六六
β -HCH	β -1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane	β -六六六
γ -HCH	1 α ,2 α ,3 β ,4 α ,5 α ,6 β -Hexachlorocyclohexane	γ -六六六(林丹)
δ -HCH	δ -1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane	δ -六六六
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane	滴滴涕
DDTs	Dichlorodiphenyltrichloroethane Isomers	滴滴涕类 同分异构体
p,p'-DDE	1,1-Dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)-ethane	1,1-二氯-2,2-双(4-氯苯基)乙烷
p,p'-DDT	2,2-Bis(p-Chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane	2,2-双(对氯苯基)-1,1-三氯乙烷
o,p-DDT	2-o-Chlorophenyl-2-p-chlorophenyl-1,1,1-trichloroethane	2-邻氯苯基-2-对氯苯基-1,1,1-三氯乙烷
p,p'-DDD	2,2-Bis(p-Chlorophenyl)-1,1-dichloroethane	2,2-双(对氯苯基)-1,1-二氯乙烷
ALT	Alanine Aminotransferase	丙氨酸转氨酶
AST	Aspartate Aminotransferase	天门冬氨酸转氨酶
AFP	α -fetoprotein	α -胎蛋白
HBsAg	Hepatitis B surface antigen	表面抗原
HBV	Hepatitis B Virus	乙肝病毒

anti-HCV	Hepatitis C Virus Antibody	丙肝病毒抗体
HCV	Hepatitis C Virus	丙肝病毒
CT	computerized tomography	计算机 X 射线断层
PCB82	2,2',3,3',4-Pentachlorobiphenyl	2,2',3,3',4-五氯联苯
HLB	hydrophilic-lipophilic-balanced	亲水亲油平衡
BMI	Body Mass Index	体重指数
GC	Gas Chromatography	气相色谱法
MS	Mass Spectrum Captrue	质谱检测器
p75	Upper Quartile	上四分位数
χ^2	Chi-square	卡方检验
LR	Likelihood Ratio	似然比
OR /AOR (RR)	Odds Ratio (Relative Risk)	优势比 (相对危险度)
CI	Confidence Interval	置信区间
M	Median	中位数
u	u test	大样本平均值 差异性检验
P	P-Value, Probability	概率
AP(AB)	Attributable Interaction Percent	归因交互效应百分比
RERI	Excess Relative Risk Ratio	超额相对危险比

1 前言

肝癌(liver cancer)是世界上第五大常见癌症,在2007年全球新增病例达到了711000例^[1]。肝癌分为原发性肝癌(primary liver cancer)和转移性肝癌(metastatic liver cancer)两种,原发性肝癌按病理又可分为肝细胞型癌(hepatocellular carcinoma HCC),胆管细胞型癌(Cholangio carcinoma)和前两种的混合型癌三种,而HCC患病数占到了总肝癌患病数的80%至90%^[2],绝大多数的病例(82%)来源于发展中国家—亚洲和非洲,仅中国肝癌人数就达到了世界肝癌总人数的55%^[3]。男性患病高于女性,肝癌是男性第二大发病癌,女性是第四大常见癌^[4]。目前HCC的患病率还在呈现出明显增长的趋势,仅从1975到2005年,年龄调整的HCC患病人数就增加了2倍,由原先的1.6/100,000增加到4.9/100,000^[5],并且该癌症死亡率极高,一项来自2000年的报告显示HCC发病数(620000例/年/全球)几乎和它的死亡数接近(595000例/年)^[6]。说明肝癌是一种恶性极强的肿瘤和目前治疗手段的有限性。即使在发达国家,生存率达五年的患者都不超过11%^[7]。最近几十年的研究,已经确认的导致肝癌的危险因子有HBV或HCV感染、饮酒、吸烟和黄曲霉毒素等;而可能的风险因子有节食、肥胖、糖尿病和胰岛素拮抗、口服避孕药和体内重金属超负荷等^[8],这些因素中,肝炎病毒感染(HBV),食源性黄曲霉毒素暴露被认为是导致肝癌的最重要的危险因素,但即使在暴露于乙肝病毒和黄曲霉毒素的高危人群中,也仅有20%的人会发展至肝癌^[9],因此并不是所有的肝炎病毒感染者和所有的食源性黄曲霉毒素暴露者等都会患上肝癌,造成这种暴露于相似危险因素出现不同结果的原因,目前尚不清楚,未识别的危险因素和个体的遗传易感性在起作用。因此,在肝癌的病因学研究中确定新的危险因素具有重要意义。我国持久性污染物的环境污染状况较为严重,并且很多的研究显示人群暴露于有机氯农药会增加肿瘤发生的风险^[10],提示有机氯农药(organochlorine pesticides, OCPs)可能是一类影响肝癌发病的新的危险因子。

有机氯农药是用于防治植物病、虫害的组成成分中含有有机氯元素的有机化合物。自古以来,人们就懂得使用杀虫剂来控制作物的病虫害及除草,直到十九世纪时才有化学药品的农药问世,而在第二次大战期间,为了寻找替代用的农药,促成了合成有机新农药的发展。1938年莫勒(P. Muller)首先发现DDT可

作为杀虫剂，且效果良好，从此之后，各种 OCPs（主要是指 DDT、六六六和各种环戊二烯类等品种）相继问世，由于这类化合物杀虫效果广、持效性长、成本低廉，曾被广泛的制造及使用于各种农林作物之上。

1.1 有机氯农药的种类

一般来说，有机氯农药可依其结构分为三大类^[11]：

第一类：环二烯类（cyclo diene），如七氯（heptachlor）、硫丹（endosulfans）、艾氏剂（aldrin）等，此类分子具有“亚甲桥茛（endo-methylene bridged）”结构，除六氯环戊二烯（hexachlorocyclopentadiene）外，其它都是属于 Diels-Alder 反应产物。它是一类土壤杀虫剂，主要要用于防治白蚁和咬食树木根部的昆虫。

第二类：氯化乙烷类的衍生物（chlorine ethene），DDT 系列和甲氧氯等，如 DDT、DDE、DDT 等，此类分子具有二个芳香环的结构。其杀虫方式主要是扰乱昆虫神经系统的正常工作，造成肌肉痉挛，从而使之抽筋至死。

第三类：六氧环己烷，如 HCHs 等。其生产过程主要是产生 γ 异构体，称为林丹。其杀虫方式类似于 DDT 类化合物。

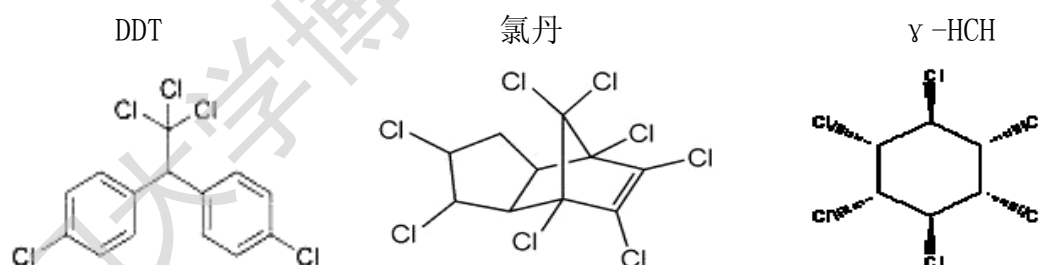


图 1 有机氯农药的结构特征可以 DDT，氯丹和 γ -HCH 为代表

由于第二类的 DDTs 和第三类的 HCHs 这两种杀虫剂在广泛的防治害虫方面表现极佳，且其急性毒的表现低，因此在二次世界大战后的二十多年时间世界各国大量使用，至 20 世纪 80 年代初世界各国相继停止使用，全世界大约生产了 150 万吨 DDT、970 万吨 HCH^[12]。我国是一个农业大国，曾生产和使用过大量的 DDTs，截至到 1983 年，累计使用 DDTs 达 40 多万吨，占世界总量的 33%^[13]。

1.2 有机氯农药的物理化学性质

有机氯农药结构稳定，常温下呈固态，不溶于水，具有高脂溶性和易在生物体内蓄积等性质（见表 1），因此，尽管我国已从 1983 年开始禁止生产和使用该类药物已经将近 20 年了，但在环境介质中和人体内仍能检测到有机氯农药等化学物质的残留^[14-17]。有机氯农药在自然界中半衰期很长，据报道 HCH 在土壤中被分解 95% 最长时间需要 20 年，DDT 则更长需 30 年的时间。这种难降解的性质还为有机氯农药提供了长距离传输的能力，目前在高纬度或高海拔寒冷这些偏远清洁背景地区都能检测到它们的存在，如南北极^[18-20]、青藏高原^[21,22]和高山地区^[23]。有机氯农药经由化学及生物途径进行分解^[24]，举例来说：DDT 在厌氧条件下会被还原脱氯转变成 DDT，而在好氧的环境下则被氧化成 DDE；很多化合物在分解后其毒性降低，但也可能增强，如艾氏剂（Aldrin）转成狄氏剂（Dieldrin）时其毒性反而加强。

表 1 有机氯农药的主要环境参数

Tab 1 The main environmental parameters of selected OCPs

农药	分子量	S	Kow	Koc	Pv	Kb	BCF
HCB	284.8	0.18(25℃)	2.6E4	1.2E4	3E-4 (25℃)	3E-12	3.9E4
β- HCH	291.0	0.24(25℃)	7.8E3	3.8E3	2.5E-7(20℃)	1E-10	1.4E4
γ-HCH	291.0	7.80(25℃)	7.8E3	3.8E3	1.6E-4(20℃)	1E-10	1.4E4
chlordane	409.8	0.06 (25℃)	3.0E5	1.4E5	1E-5(25℃)	3E-12	3.6E5
DDE	318.0	0.04(20℃)	9.1E5	4.4E6	6.5E-6	3E-12	9.8E5
DDT	320.0	0.10 (5℃)	1.6E6	7.7E5	10.2E-7	1E-10	1.6E6

资料来源：江苏省环境监测中心：《突发性污染事故中危险品档案库》-有毒化学品的主要环境参数表，2004 年

S--化合物在水中的溶解度 ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$);

Kow---辛醇—水分配系数;

Koc--沉积物—水分配系数;

Pv--蒸汽压 (Pa);

Kb--生物转化和降解系数;

BCF--生物富集系数。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库